

INTISARI

Phalaenopsis 'OX Queen' adalah tanaman hias populer yang dikenal karena bunganya yang berwarna ungu tua, yang terkait dengan keberadaan pigmen antosianin dalam jalur biosintesis flavonoid. Gen *Chalcone Synthase* (*CHS*) berperan penting dalam pengaturan pigmentasi tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan penyuntingan gen *CHS* pada tanaman anggrek *P.* 'OX Queen' menggunakan teknologi *CRISPR/Cas9* untuk menghasilkan pola warna bunga varigata, serta meningkatkan nilai komersial. Metodologi penelitian meliputi isolasi DNA dari jaringan bunga, pengurutan sekuen basa nukleotida untuk konfirmasi motif *CHS*, desain *sgRNA* spesifik yang menargetkan gen *CHS*, konstruksi plasmid pRGEB32 dengan *sgRNA*, serta transformasi genetik menggunakan agroinfiltrasi dengan strain *Agrobacterium tumefaciens* GV3101 yang membawa konstruksi plasmid UBI::*Cas9*::U3::*CHS*. Hasil menunjukkan bahwa warna ungu bunga yang dievaluasi menggunakan bagan warna *RHS* mengklasifikasikan *P.* 'OX Queen' sebagai *Deep Purple Pink* (N73A). Gen *CHS* berhasil diisolasi pada panjang 1.287 bp, dengan motif *CHS* yang konservatif berukuran 50 bp (1193 bp – 1243 bp), mengandung domain PLN03172 dan PLN03170. Gen *CHS* berhasil disisipkan ke dalam plasmid pRGEB32 dan ditransformasikan ke *A. tumefaciens* GV3101 melalui teknik *freeze thaw*. Hasil transformasi yang dilakukan secara agroinfiltrasi pada tangkai bunga menunjukkan perubahan pola warna bunga pada perlakuan PT1 dan PT2, dengan kode warna *Moderate Purplish Red* (N70 A) di tengah bunga dan *Very Light Purple* (N76 B) di tepi bunga. Keberhasilan penyuntingan gen melalui PCR untuk mengetahui keberadaan gen *ACTIN*, *Cas9*, serta *CHS*. Variasi warna yang dihasilkan menunjukkan bahwa teknologi *CRISPR/Cas9* dalam modifikasi genetik dapat dimanfaatkan untuk pembuatan bunga berpola varigata.

Kata kunci:

Phalaenopsis 'OX Queen', *CRISPR/Cas9*, gen *Chalcone Synthase* (*CHS*), bunga varigata, pengeditan genom, agroinfiltrasi

ABSTRACT

Phalaenopsis 'OX Queen' is a popular ornamental plant known for its dark purple flowers, which are associated with the presence of anthocyanin pigments in flavonoid biosynthesis pathways. The *Chalcone Synthase (CHS)* gene plays an important role in the regulation of pigmentation. This study aims to edit the *CHS* gene in the orchid plant *P. 'OX Queen'* using *CRISPR/Cas9 technology* to produce varigate flower color patterns, as well as increase commercial value. The research methodology included DNA isolation from flower tissue, nucleotide base sequence sequencing for *CHS* motive confirmation, specific *sgRNA design targeting CHS genes*, construction of *pRGEB32 plasmid with sgRNA*, and genetic transformation using agroinfiltration with *Agrobacterium tumefaciens strain GV3101 carrying the construction of plasmid UBI::Cas9::U3::CHS*. The results showed that the purple color of the flowers evaluated using the *RHS color chart* classified *P. 'OX Queen'* as *Deep Purple Pink (N73A)*. The *CHS gene* was successfully isolated at a length of 1,287 bp, with a conservative *CHS* motif measuring 50 bp (1193 bp – 1243 bp), containing the *PLN03172* and *PLN03170* domains. The *CHS gene* was successfully inserted into the *pRGEB32 plasmid* and transformed into *A. tumefaciens GV3101* through the *freeze thaw technique*. The results of the transformation carried out by agroinfiltration on the flower stalks showed a change in the flower color pattern in the treatment of *PT1* and *PT2*, with the color code of *Moderate Purplish Red (N70 A)* in the middle of the flower and *Very Light Purple (N76 B)* at the edge of the flower. Successful gene editing through PCR to determine the presence of *ACTIN*, *Cas9*, and *CHS* genes. The resulting color variation shows that *CRISPR/Cas9 technology* in genetic modification can be used for the manufacture of varigate-patterned flowers.

Keywords:

Phalaenopsis 'OX Queen', *CRISPR/Cas9*, *Chalcone Synthase (CHS)* gene, variegated flower, genome editing, agroinfiltration